

## 裂解-气相色谱-质谱法对中药材指纹图谱的研究

陈卫东<sup>1</sup>, 詹庆丰<sup>1</sup>, 吴 萍<sup>1</sup>, 葛秀文<sup>1</sup>, 舒敬值<sup>1</sup>, 惠永正<sup>1</sup>, 王 骏<sup>2</sup>, 徐宏喜<sup>3</sup>

(1. 上海中药创新研究中心, 上海 201203; 2. 香港中文大学, 香港 沙田; 3. 香港赛马会中药研究院, 香港 沙田)

**摘要:**建立了离线裂解-气相色谱-质谱联用法(P-GC/MS)研究中药材指纹图谱的测定方法。中药材样品经粉碎, 离线高温裂解, 丙酮乙醇混合液萃取后, 利用气相色谱-质谱联用法进行测定。质谱总离子流图充分反映中药材组分特性, 并确定各峰组分的结构, 为中药材鉴别及质量控制提供了一种很好的方法。该方法有效地改进了图谱的特征性和重现性, 具有快速、简单、准确等特点, 可用于中药材指纹图谱研究。

**关键词:**GC/MS; 裂解; 指纹图谱; 中药材

中图分类号: O657. 63; R927. 11 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2007)02-65-08

## Study on Fingerprint of Herbal Material by Pyrolysis-GC/MS

CHEN Wei-dong<sup>1</sup>, ZHAN Qing-feng<sup>1</sup>, WU Ping<sup>1</sup>, GE Xiu-wen<sup>1</sup>,  
SHU Jing-zhi<sup>1</sup>, HUI Yong-zheng<sup>1</sup>, WANG Jun<sup>2</sup>, XU Hong-xi<sup>3</sup>

(1. Shanghai Innovative Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

2. The Chinese University of Hong Kong, Shatian Hong Kong, China;

3. Hong Kong Jockey Club Institute of Chinese Medicine, Shatian Hong Kong, China)

**Abstract:** The offline Pyrolysis-GC/MS (P-GC/MS) method was developed for fingerprint of herbal material. The herbal material samples were smashed, pyrolyzed, extracted with acetone and ethanol mix solution and determined by GC/MS. The character and structure of components in herbal material were distinguished by TIC of mass spectrometer. The method provides for identification and QC to herbal material. Repetition and character of fingerprint are improved. It is quick, simple and accurate, which is suitable for researching the fingerprint of herbal material.

**Key words:** GC/MS; pyrolysis; fingerprint; herbal material

中药材的功能具有多样性, 一种成分的作用难以代表一味中药的全部功效, 中药材的功效多为协同作用和拮抗作用。中药材的指纹图谱具有整体、宏观、模糊分析等特点, 可通过对中药整

体特性的描述, 采用适当模糊处理方式, 达到整体质量控制的目的。美国食品药品监督管理局(FDA)欧洲合格认证(CE)印度草药典, 德国和加拿大药用植物学会及日本汉方药要求中药材

及其制剂申报材料提供相应的指纹图谱指标,国家食品药品监督管理局(SFDA)也要求中药注射剂制定相关的指纹图谱。因此,使用指纹图谱技术对中药材标准化进行质量控制已成为一种必然趋势。中药指纹图谱的研究与应用正是在此背景下发展起来的<sup>[1-3]</sup>。目前,色谱指纹图谱一般是建立在溶剂萃取中药材,用色谱方法(HPLC, GC 或 TLC)分析萃取液的实验操作基础上。由于中药材的特殊性(植物药用部位不同)和成分的复杂性,样品前处理工作量大,影响因素多,至今没有通用的处理模式。热裂解技术和气相色谱的结合,即裂解气相色谱(P-GC)能较好地解决气相色谱直接分析固体样品问题。

固体样品置于裂解器中,在确定的裂解温度下样品裂解为可汽化的小分子化合物,即裂解产物。样品裂解产物分布只与样品的结构、化学组成和裂解温度有关。因裂解色谱这一特点,它在高分子材料、生化、刑侦等领域广泛应用<sup>[4-5]</sup>。裂解色谱用于中药材的分析鉴定和指纹图谱研究从上世纪 80 年代已有报道<sup>[6-7]</sup>,但数量不多,其主要原因是中药材裂解指纹图谱的重现性不易掌握。因为在线的裂解气相色谱分析样品进样量很小,中药材各部位(如根、茎、叶、果实的壳与仁等)的化学成分分布不均匀,例如贵州产的淫羊藿的全草与茎杆的裂解产物产不相同,其总

离子流图示于图 1。样品进样量过小时,取样时中药材各部位分布不均匀,往往会造成裂解指纹图谱的重现性欠佳。中药材取样的均匀性可以通过增大样品的进样量来改善。本工作拟采用离线裂解的方式,裂解产物收集后由 GC/MS 分析,并利用化合物质谱库检索,对所获得的中药指纹图谱不仅停留在色谱峰组合上的认识,且对其中大部分裂解产物可以从化合物结构上进行识别。

## 1 试验部分

### 1.1 主要仪器与装置

Agilent 6890-5973N 气相色谱-质谱仪(EI 源);美国 Agilent 公司产品;中药粉碎机;离线裂解实验装置(自制)示意图示于图 2。

### 1.2 主要材料与试剂

18 种中药材样品均购自上海华宇药业公司,经上海中药创新研究中心鉴定;丙酮、乙醇:分析纯,上海国药集团化学试剂公司产品。

### 1.3 试验条件

**1.3.1 色谱条件** 色谱柱:HP50 石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm);升温程序:60 °C 保持 4 min,以 15 °C·min<sup>-1</sup> 升至 260 °C;进样温度:270 °C;载气(He)流速 1.2 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 1.0 μL;分流比 20:1。

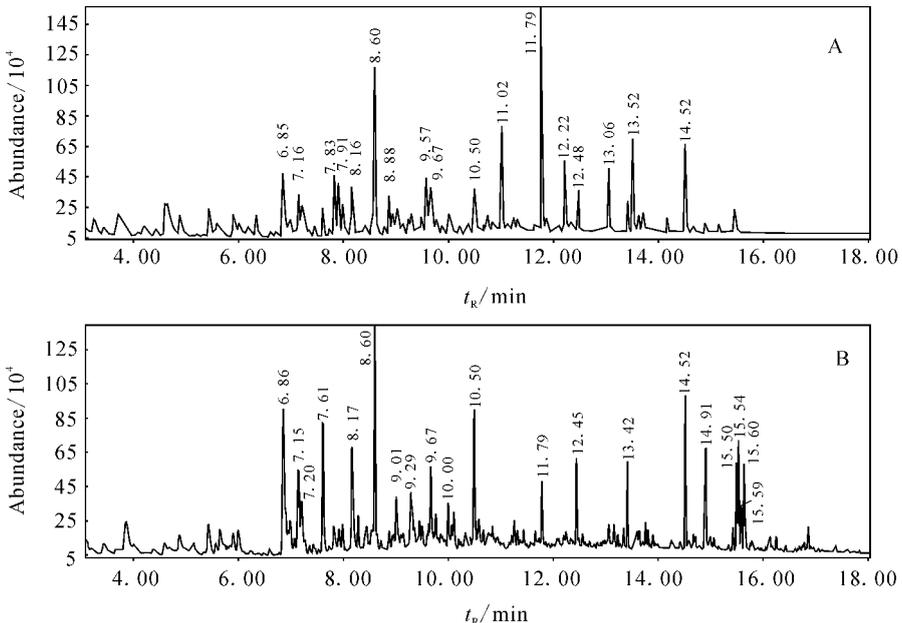


图 1 贵州产淫羊藿裂解产物的 GC/MS 总离子流图

A—全草;B—茎杆

Fig. 1 GC/MS TIC of herba epimedii in Guizhou

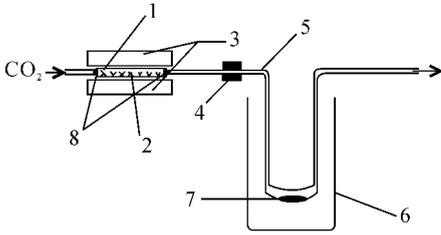


图 2 离线裂解装置示意图

Fig. 2 Sketch of outline pyrolysis device

- 1——样品裂解管;2——中药样品;3——管状电炉;  
4——硅橡胶管;5——裂解产物凝集管;6——冷浴;  
7——裂解产物;8——玻璃毛

**1.3.2 质谱条件** 电子轰击(EI)离子源;电子能量 70 eV;GC/MS 接口温度 280 ℃;离子源温度 230 ℃;质量扫描范围  $m/z$  25~450。检索谱库;Nist98 和 Wiley 275 谱库。

#### 1.4 样品前处理

取中药材草豆蔻,黑大豆(种子);蛇床子,白豆蔻,枸杞,砂仁,山茱萸(果实);山药,川芎(块茎);熟地黄,木香,柴胡,前胡(根);香附(根茎);细辛(全草);红景天(根及根茎);淫羊藿(地上部分);扶芳腾(茎,叶)约 20 g,用中药粉碎机粉碎至约 20 目的粉末,备用。

#### 1.5 离线裂解实验

管状电炉由用于元素分析的电炉改装而成,两半圆型,可开启,温度(450 ± 1.5)℃。样品裂解管由硬质玻璃管制而成,中段直径 14 mm,两端 8 mm。称取 1 g 约 20 目中药材样品于玻璃管中段,一端用耐高温硅橡胶管与裂解产物凝集管相连(裂解产物凝集管预先放入冷槽中),以 10 mL · min<sup>-1</sup>流速通 CO<sub>2</sub> 5 min 后,将裂解

管放入 450 ℃管状电炉中裂解。继续通 CO<sub>2</sub>,裂解产物随 CO<sub>2</sub> 气流引出,冷凝在凝集管中,裂解 20 min 后,将裂解装置从管状电炉中取出。当裂解管温度降至近室温时,停止通 CO<sub>2</sub>,撤去冷浴,裂解产物凝集管至室温后,用 3 mL V(丙酮):V(乙醇)=1:1 的混合液分两次萃取裂解产物,合并摇匀后,取 1 μL 进行 GC/MS 分析。

## 2 结果

### 2.1 裂解指纹图谱重现性的考察

重现性是建立指纹图谱的基础,中药材裂解产物一般比较复杂,气相色谱-质谱总离子流色谱图峰数多达几十个,实验表明,加大药材样品量后,谱图重现性比采用在线 P-GC 方法有明显改善,以淫羊藿(吉林)和蛇床子(浙江)为例,测定结果列于表 1。

由表 1 可知,两种药材 10 种裂解产物其峰面积相对含量相对误差在 10% 以内,裂解产物基本稳定,满足中药材色谱指纹图谱研究。

### 2.2 中药材裂解指纹图谱特征性

实验对 18 种中药材进行裂解测定,其裂解产物气相色谱-质谱总离子流图即裂解指纹图谱,对比分析裂解指纹图谱可以看出,每一味药材的裂解指纹图各不相同,其差异是建立色谱指纹图谱的关键。对谱图中色谱峰进行质谱检索和化学结构辨认,发现每一味药材都有其特征裂解产物,根据特征裂解产物就可以表征该中药材。表 2 列出 18 种中药材裂解生成的主要裂解产物及特征裂解产物。

表 1 淫羊藿(吉林)和蛇床子(浙江)部分裂解产物峰面积相对含量

Table 1 Pyrolysis of herba epimedii(Jilin) and fructus cnidii monnieri (Zhejiang)

药材 Herbal	峰号 Number of Peak	保留时间 $t_R$ /min	峰面积相对含量 Relative Content / %						RSD / %
			1	2	3	4	5	6	
淫羊藿(吉林) Herba Epimedii	1	6.873	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	
	2	7.215	22.21	22.32	20.17	22.39	20.69	22.12	4.60
	3	7.925	30.69	29.77	29.35	28.43	29.00	28.87	2.73
	4	8.176	53.02	52.03	54.38	53.11	55.93	53.52	2.53
	5	8.609	28.19	25.49	28.54	27.00	25.77	26.46	4.65
	6	9.037	27.75	26.16	26.73	25.29	25.05	26.33	3.76
	7	9.293	22.42	21.82	21.98	20.14	19.97	22.06	4.80
	8	9.773	14.05	12.09	13.65	12.85	12.63	13.09	5.41
	9	13.423	23.25	24.84	24.09	23.20	22.86	23.55	3.05
	10	14.90	15.76	14.22	15.52	14.99	13.72	13.92	5.84

续表

药材 Herbal	峰号 Number of Peak	保留时间 $t_R$ /min	峰面积相对含量 Relative Content / %						RSD / %
			1	2	3	4	5	6	
蛇床子(浙江) Fructus Cnidii monnieri	1	6.085	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	
	2	7.477	9.95	11.45	10.47	11.05	11.27	10.06	5.96
	3	7.607	5.76	5.46	6.25	5.17	6.02	5.66	6.75
	4	7.742	8.03	6.79	7.41	7.23	7.56	6.88	6.27
	5	10.002	9.09	8.99	9.44	10.03	9.38	10.64	6.28
	6	10.585	5.45	6.07	5.81	6.19	5.63	5.71	2.77
	7	12.959	12.33	12.41	12.63	13.05	13.25	11.78	4.44
	8	16.029	7.49	7.33	8.00	8.16	7.15	7.09	5.92
	9	16.218	10.84	12.19	10.92	11.48	11.22	12.07	4.99
	10	17.961	33.01	34.02	33.72	31.66	32.55	31.97	2.87

注:  $t_R$  值误差  $\pm 0.012$  min

在中药材裂解指纹图谱中,发现中药材中有一些共同的裂解产物,几乎所有药材裂解产物都检出糠醛,有的还是以主要裂解产物形式存在,如山药、熟地黄、山茱萸等。关于糠醛的产生,认为与药材中纤维素、多醣、淀粉等组分有关。而在相当多的中药材裂解产物中检出软脂酸、油

酸、亚油酸等长链脂肪酸,则认为这是由于药材中所含油脂-甘油三羧酸酯裂解所致。

### 2.3 不同产地的同种中药材的鉴别

取淫羊藿按 1.5 中裂解方法操作,测定结果示于图 3。

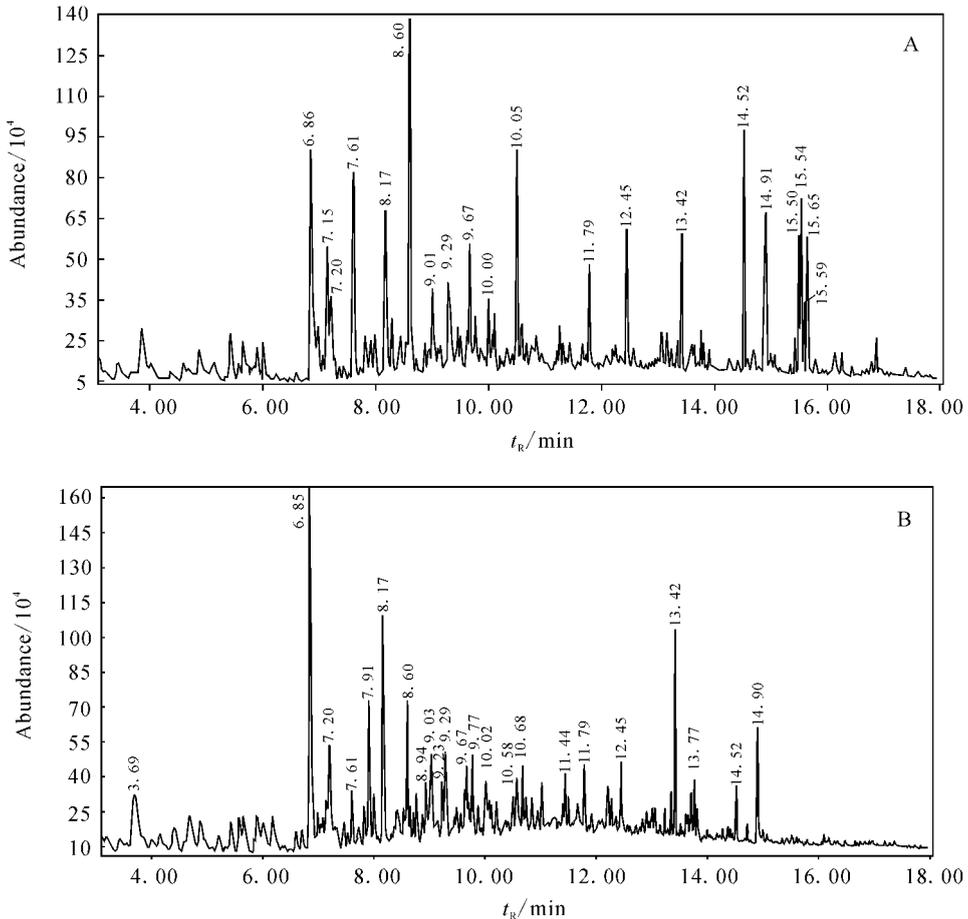


图 3 不同产地淫羊藿谱图比较

A—贵州(Gui zhou); B—吉林(Jilin)

Fig. 3 Relative TIC of herba epimedii in different habitats

表 2 中药材裂解指纹图谱中主要裂解产物及特征裂解产物

Table 2 Characteristic products and main products of herbal pyrolysis

序号 No.	药材名 Herbal	主要裂解产物 Main product	分子式 Molecular formula	相对分子质量 Relative molecular mass	相似度 Similarity /%	特征裂解产物 Characteristic product	分子式 Molecular formula	相对分子质量 Relative molecular mass	相似度 Similarity/%
1	草豆蔻 Semen alpiniae katsumadai	3-苯基-2-丁酮 3-Phenyl-2-butanone	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	148	98	1,7-二苯基-4,6-庚二烯-3-酮 1,7-Diphenyl-4,6-heptadien-3-one	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O	262	96
2	白豆蔻 Fructus amomi rotundus	桉叶油素 Eucalyptol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	98	3-环己烯- $\alpha,\alpha$ ,4-三甲基-1-甲 醇 3-Cyclohexene- $\alpha,\alpha$ ,4-trim- ethyl-methanol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.14	97
3	熟地黄 Radix rehmanniae preparatum	糠醛 Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96	97	3,4-亚甲基二氧杂苯基乙炔 3,4-Methylenedioxyphenyle- thyne	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	146	95
4	枸杞 Fructus lycii	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基- 4-吡喃-4-酮 2,3-Dihydro- 3,5-dihydroxy-6-methyl-4H- pyran-4-one	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	144	94	2-甲氧基-4-(1-烯丙基)苯酚 2-Methoxy-4-(1-propenyl)- phenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164	95
5	山茱萸 Cornus officinalis sieb et zucc	糠醛 Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96	95	1,4-二氢-1,4-亚甲基萘 1,4- Dihydro-1,4-methanonaph- thalene	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>	142	90
6	山药 Rhizoma dioscoreae	糠醛 Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96	94	3-甲基-1,2-环戊二酮 3-Mth- yl-1,2-cyclopentanedione	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	112	94
7	木香 Radix Aucklandiae seu vlad- imiriae	脱氢木香内酯 Dehydrocostuslactone	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	230.13	91	脱氢木香内酯 Dehydrocostuslactone	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	230.13	96
8	黑大豆 Semen sojae atricolor	4-氨基-4-甲基-2-戊酮 4-Ami- no-4-methyl-2-pentanone	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO	115	87	十五(碳)腈 Pentadecanenitrile	C <sub>15</sub> H <sub>29</sub> N	223.23	98
9	柴胡 Radix bupleuri	十五(碳)腈 Pentadecanenitrile	C <sub>15</sub> H <sub>29</sub> N	223.23	98	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚 2-Methoxy-4-vinylphenol	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	150.07	97

续表

序号 No.	药材名 Herbal	主要裂解产物 Main product	分子式 Molecular formula	相对分子质量 Relative molecular mass	相似度 Similarity /%	特征裂解产物 Characteristic product	分子式 Molecular formula	相对分子质量 Relative molecular mass	相似度 Similarity/%
10	细辛(亳州) Herba asari	1,2-二甲氧基-4-(2-烯丙基)苯 1, 2-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-benzene	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	178.10	96	2,6,6-三甲基-2,4-环庚二烯-1-酮 2, 6, 6-Trimethyl-2, 4-cycloheptadien-1-one	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	150.10	98
11	蛇床子 Fructus cnidii monnieri	D-苌烯 D-Limonene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.13	94	王草素 Osthole	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	244.11	96
12	淫羊藿(吉林) Herba epimedii(Jilin)	苯酚 Phenol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	94	95	新植二烯 Neophytadiene	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>	278.30	99
13	香附 Rhizoma cyperi	3,5,6,7,8,8a-六氢-4,8a-二甲基-6-(1-甲基乙烯基)-2(1H)萘酮 3,5,6,7,8,8a-Hexahydro-4,8a-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-2(1H)naphthalenone	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	218.17	98	2,4,5,6,7,8-六氢-1,4,9,9-四甲基-[3aR-(3a,α,4β,7α)]-3H-3a-7-亚甲甘菊环烷 2, 4, 5, 6, 7, 8-Hexahydro-1,4,9,9-tetramethyl-[3aR-(3a,α,4β,7α)]-3H-3a-7-methanoazulene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.19	99
14	川芎 Rhizoma ligustici chuanxiong	3-正丁基酞内酯(藜本内酯) 3N-Butyl phthalide	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	190.10	96	丁烯基酞内酯 Butylidene phthalide	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	188.08	98
15	扶芳藤 Caulis et folium euonymi fortunei	2-甲氧基苯酚 2-Methoyl phenol	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	124.05	94	豆甾[3,5]二烯 Stigmastan-3,5-dien	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub>	396.38	92
16	砂仁 Fructus amomi	樟脑 Camphor	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.12	98	醋酸冰片酯 Bornyl acetate	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	196.15	93
17	前胡 Radix peucedani	2H-咪喃[2,3-H]-1-苯并吡喃-2-酮(当归内脂或白芷素) 2H-Furo[2,3-H]-1-benzopyran-2-one	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	186.03	96	8-(1-甲基乙烯基)-H-咪喃[2,3-h]-1-苯并吡喃-2-酮(8-(1-甲基乙烯基)-当归内脂) 8-(1-Methylethenyl)-H-furo[2,3-h]-1-benzopyran-2-one	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	226.06	97
18	红景天 Herba rhodiolae sacrae	糠醛 Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96.02	96	辛酸 Octanoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	144.12	94

由实验可知,一般情况下不同地域的同种药材其裂解产物分布基本相同,但各组分的含量差异却很大。图 3 是贵州淫羊藿(A)和吉林淫羊藿(B)部分放大的裂解指纹图。 $t_R = 13.42$  min 是两淫羊藿共有的特征裂解产物新植二烯(neophytadiene),贵州产淫羊藿在  $t_R = 15.5$  min 有一组大环内酯(oxacycloheptadecan-2-one, oxacycloheptadecen-2-one 等),而吉林产淫羊藿却几乎不存在,A 图中的基峰  $t_R = 8.60$  min,而

B 中的基峰  $t_R = 6.85$  min。根据基峰及各峰的含量差异为标准,可用 P-GC/MS 谱图来确定中药材的产地及质量。

在其他的中药材试验中,结论与淫羊藿的结论一致。产自浙江、安徽、湖北三地的香附裂解指纹图谱示于图 4,通过对图谱中各组分含量的对比,可以很清楚看出不同产地的同种药材的指纹谱图特征,也可以依此来区分药材产地的不同。

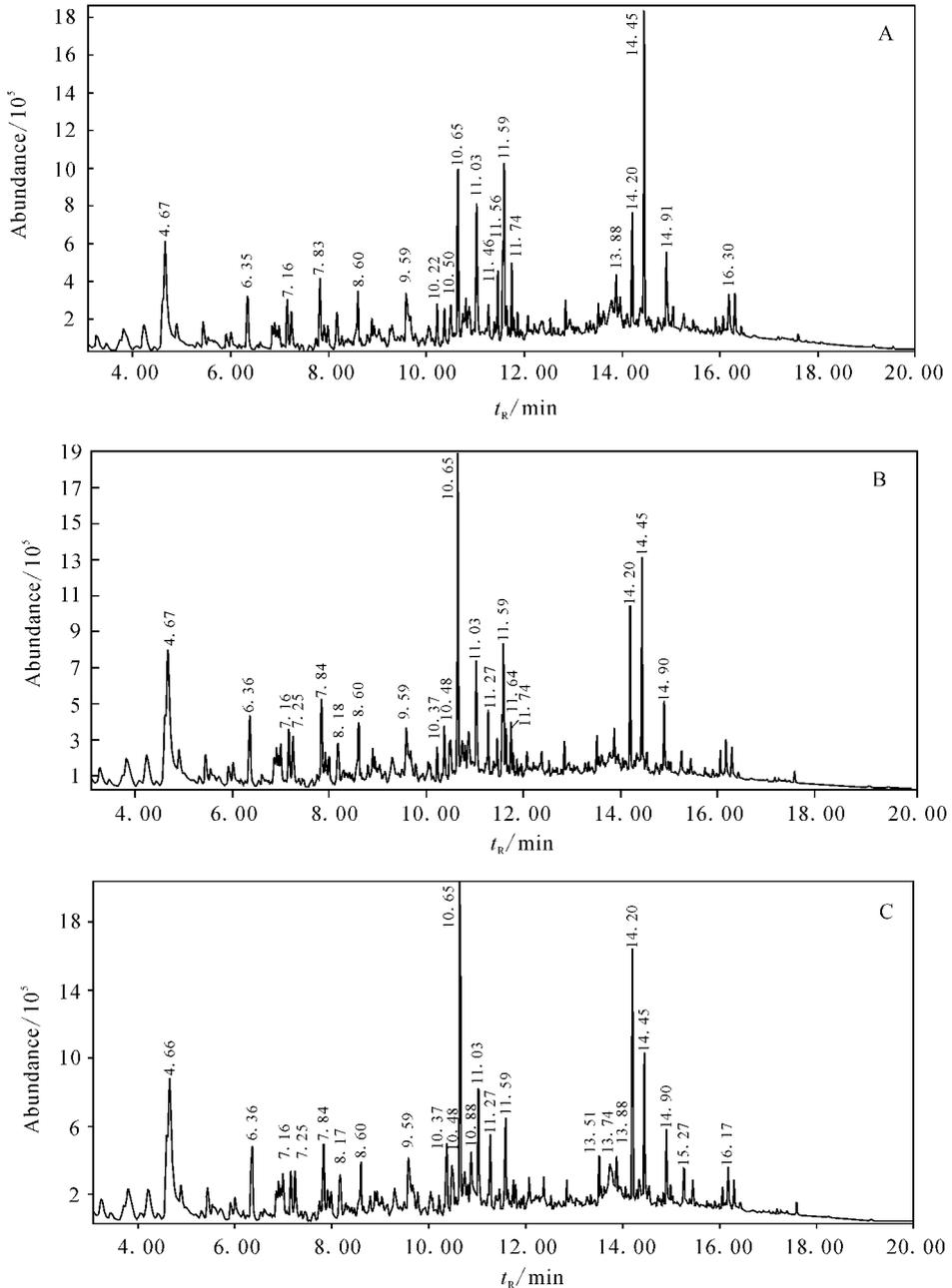


图 4 香附的裂解指纹图谱

A—浙江(Zhejiang); B—安徽(Anhui); C—湖北(Hubei)

Fig. 4 Relative TIC of Rhizoma cyperi

### 3 讨 论

通过对 18 种中药材裂解指纹图谱分析对比,认为这些药材裂解指纹图谱可以区分不同种类及不同产地的中药材(研究工作还在继续)。因缺少不同产地的药材,目前还不能通过裂解指纹图谱区别不同产地的细辛和蛇床子。

在中药材的裂解指纹图谱研究过程中,发现每一味中药材的裂解指纹图谱的特征产物都不只一种,裂解后图谱中的峰有几十个,分析每一种特征产物难度很大,本实验为研究的初级实验,目前每一种药材只找到一种特征产物。

中药材裂解指纹图谱研究是一项工作量大而又具挑战性的课题。中药裂解指纹图谱特点是可用一种确定的样品前处理方法(如裂解)来规范处理几乎所有的中药材,且周期短,这对于标准方法的制订非常有利。本工作中药材裂解指纹图谱还属初探,只有积累足够多种类的中药材(特别是不同产地的同种药材)的裂解指纹图谱,工作才有实用价值。从技术的角度讲,气相色谱-质谱和热裂解技术都比较成熟,其关键在于大量多种类的中药材样品的收集和鉴别。

### 参考文献:

- [1] CAI B C, PAN Y, YIN W. The applications of fingerprints in research Chinese traditional medicine[J]. World Science and Technology/Mordenization of Chinese Traditional Medicine, 2000, 2(5): 9-14.
- [2] LI X B, TU P F. Fingerprint system of Chinese medicine materials[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34(5): 385-387.
- [3] YANG Y F, CAI D J. Survey in study on fingerprint spectrum of Chinese materials medicine[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34(6): Appendix 2-5.
- [4] 柘植新, 大谷肇. 高分子裂解色谱原理与高分子裂解谱图集[M]. 金熹高, 罗远芳, 译. 北京: 科学技术出版社, 1993.
- [5] 傅若农, 刘虎威. 高分辨气相色谱及高分辨裂解气相色谱[M]. 北京: 化学工业出版社, 1992.
- [6] ZHANG P F, WANG C L. Applications in herbal medicine quality management methods[J]. Pharmic Magazine of Northwest, 1999, 14(5): 225-227.
- [7] YUAN M, ZHANG M G, ZENG Z. Determination of fingerprints of Chinese traditional medicine by pyrolysis gas chromatography[J]. Journal of South China Normal University: Naturl Science Edition, 2003(1): 66-70.